生物炭施用对桂北桉树人工林土壤酶活性的影响

牟芝熠[1,5]，段春燕[2]，黎彦余[3]，张德楠[4]，孙英杰[4]，滕秋梅[4]，陈运霜[1,5]，曹杨[1,5]，王紫卉[6]，徐广平[4,5*]

（1. 广西漓江流域景观资源保育与可持续利用重点实验室，广西师范大学，广西 桂林 541006；2. 山西中信绿洲环保科技有限公司，太原 03000；3. 广西壮族自治区国有黄冕林场， 广西 鹿寨 545600；4. 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室，广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所，广西 桂林 541006；5. 广西师范大学 生命科学学院，广西 桂林 541006；6. 桂林理工大学 环境科学与工程学院，广西 桂林 541006）

摘 要：探究土壤酶活性对生物炭输入的响应特征，为合理应用桉树枝条生物炭提供理论参考。该研究基于桂北桉树人工林田间试验，以桉树人工林采伐剩余物枝条为原料，在 500 ℃条件下厌氧制备生物炭，施用质量分数分别为 0（CK）、0.5%（T1）、1%（T2）、2%（T3）、4%（T4）和 6%（T5）的桉树枝条生物炭，输入 1 a 后，分析了不同处理下土壤酶活性的变化特征。结果表明：（1）沿着土层垂直深度，土壤酶含量减小。（2）各土层脲酶、过氧化氢酶、β-葡萄糖苷酶和脱氢酶的含量随生物炭施用量的增加而增大，在生物炭施用量为 6%时含量最高。（3）酸性磷酸酶、蔗糖酶、亮氨酸氨基肽酶和纤维二糖苷酶的含量随着生物炭施用量的增加呈现先增加后减少的趋势，其中酸性磷酸酶和亮氨酸氨基肽酶在生物炭施用量为 2% 时含量最高，蔗糖酶和纤维二糖苷酶则在生物炭施用量 4%时含量最高。总体上，桉树枝条生物炭施用不同程度地提高了桉树人工林的土壤酶活性。该研究结果可为林业废弃物制备生物炭资源化利用途径及其在桉树人工林的应用提供科学依据。

关键词：生物炭，土壤酶活性，桉树人工林，桂北，田间试验

中图分类号：Q948；S156；S154.3　　　**文献标识码：**A

Effects of biochar application on soil enzyme activities in *Eucalyptus* plantations in North Guangxi

MOU Zhiyi[1,5]，DUAN Chunyan[2]，LI Yanyu[3]，ZHANG Denan[4]，SUN Yingjie[4]，TENG Qiumei[4]，CHEN Yunshuang[1,5]，CAO Yang[1,5]，WANG Zihui[6]，XU Guangping[4,5*]

(1. *Guangxi Key Laboratory of Landscape Resources Conservation and Sustainable Utilization in Lijiang River Basin*, *Guangxi Normal University*, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. *Oasis Environmental Protection Technology Limited Company of Shanxi Zhongxin*, Taiyuan 03000, China; 3. *Huangmian Forestry Centre of Guangxi*, Liuzhou 545600, Guangxi, China; 4. *Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain*, *Guangxi Institute of Botany*, *Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, Guangxi, China; 5. *College of Life Sciences*, *Guangxi Normal University*, Guilin 541006, Guangxi, China; 6. *College of Environmental Science and Engineering*, *Guilin University of Technology*, Guilin 541006, Guangxi, China）

Abstract: To investigate the effects of different biochar applications on soil enzyme activity in *Eucalyptus* plantation forests in North Guangxi, and provide theoretical references for the rational application of biochar to

基金项目：国家自然科学基金(31760162, 41361057)；广西自然科学基金(2018GXNSFAA050069，2020GXNSFBA297048)；广西岩溶动力学重大科技创新基地开放课题(KDL & Guangxi202004)；广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室基金(19-050-6, 19-185-7)；广西科学院基本科研业务费项目(CQZ-E-1912)；广西植物研究所学科发展基金项目(001, 006)；广西重点研发计划项目(AB21220057)；广西漓江流域景观资源保育与可持续利用重点实验室研究基金(LRCSU21K0203) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31760162，41361057)；Natural Science Foundation of Guangxi(2018GXNSFAA050069，2020GXNSFBA297048)；Guangxi Key Science and Technology Innovation Base on Karst Dynamics (KDL & Guangxi202004)；Fund of Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain(19-050-6，19-185-7)；Basic research fund of Guangxi Academy of Sciences (CQZ-E-1912)；Construction Fund for Subjects of Guangxi Institute of Botany (001, 006)；Guangxi Key Research and Development Program(AB21220057)；Research Funds of Guangxi Key Laboratory of Landscape Resources Conservation and Sustainable Utilization in Lijiang River Basin, Guangxi Normal University (LRCSU21K0203)]。

第一作者：牟芝熠(1996-)，硕士研究生，主要从事森林生态学研究，(E-mail) 453934995@qq.com。

*通信作者：徐广平，博士，副研究员，主要从事土壤生态学与全球变化的研究，(E-mail) xugpgau@163.com。

Eucalyptus plantations. Based on field experiments, biochar was prepared anaerobically at 500 ℃ from branches of *Eucalyptus* plantation harvesting residues, and with 6 treatment group, such as 0 (CK), 0. 5% (T1), 1% (T2), 2% (T3), 4% (T4), and 6% (T5) , to analyze the changes in soil enzyme activities under different application rates after one year importation. The results were as follow: (1) The soil enzyme content decreased gradually as the soil layer deepened. (2) In the same soil layer, the contents of catalase, urease, dehydrogenase and β-glucosidase increased with the increase of biochar application, and the highest contents were found at 6% of biochar application. (3) With the increase of biochar application, the contents of acid phosphatase, sucrase, leucine aminopeptidase and cellobioglucosidase showed a trend of increasing and then decreasing. Acid phosphatase and leucine aminopeptidase had the highest contents at 2% of biochar application. Sucrase and cellobioglucosidase had the highest contents at 4% of biochar application. In general, the biochar application increased the soil enzyme activities of *Eucalyptus* plantations. The results of this study can provide a scientific basis for the application of forestry waste biochar in *Eucalyptus* plantations.

Key words: biochar, enzyme activity, *Eucalyptus* plantations, North Guangxi, field experiment

生物炭是生物质在厌氧的情况下进行热解处理的固体残留物，其原料来源和热解条件影响着其特性（Campos et al., 2020）。生物炭含碳量丰富、容重小、比表面积大、结构疏松多孔、吸附能力强，添加生物炭能增加土壤的有机碳含量、调节和保持土壤水分和空气、能改善土壤的肥力等，从而促进植物的生长（Wang et al., 2020）。研究结果表明，生物炭可作为新型的土壤改良剂被广泛用于土壤修复等方面（何选明等，2015；段春燕等，2020；徐瑾等，2020；王豪吉等，2021）。

土壤酶来源于土壤中动植物和微生物细胞的分泌物及残体的分解等，是土壤中最活跃的组分之一，在有机质分解中发挥着积极作用（关松荫，1986），能指示土壤质量的变化情况（Xu et al., 2017）。根据酶的功能及其催化反应的类型，土壤酶主要分为水解酶、裂合酶、氧化还原酶、转移酶等（关松荫，1986），氧化还原酶类是在土壤中催化氧化还原反应的酶，在能量传递和物质代谢方面有着重要的作用，主要包括过氧化氢酶、脱氢酶等；水解酶是将蛋白质等物质分解为易被植物吸收的酶，包括蔗糖酶、脲酶、磷酸酶、肽酶、纤维素酶等。研究土壤酶活性的变化可以更好地反映生物炭输入对土壤微生态的影响。前人研究表明，在新疆地区的灰漠土和风沙土连作的棉田上施用生物炭，能提高其根际土壤养分和微生物多样性（顾美英等，2014）。但也有研究报道树枝制备生物炭可以提高壤土和砂土中与氮磷循环相关的酶活性，却降低了壤土中与碳循环有关的酶活性（Bailey et al., 2011；尚杰等，2016）。目前关于生物炭对土壤酶活性影响的研究多集中于室内培养试验或短期的田间试验，结果还不尽一致（Castaldi et al., 2011）。可见，生物炭对土壤酶活性的影响因其原料来源和土壤类型的不同而有较大差异。因此，基于野外大田试验，有必要探究生物炭施用后土壤酶活性的变化特征，对深入揭示生物炭对土壤的改良效应具有重要意义。

桉树（*Eucalyptus*）作为速生树种，在广西种植历史悠久，桉树人工林的面积不断扩大，促进了广西地方经济的发展，但由于桉树人工林经营中也存在土壤地力衰退等生态问题（黄国勤等，2014；温远光等，2019），桉树人工林的土壤质量及其肥力水平有待进一步的提高。桉树人工林经营过程中会产生有大量的林业废弃物，通过制备生物炭并就地还田，如能发挥桉树枝条生物炭在桉树人工林的积极作用，将产生较大的生态经济效益。目前生物炭在农业方面的研究比较充分，但将生物炭施用于桉树人工林方面的研究较少，生物炭施用对桉树人工林土壤酶活性的影响尚不明确。因此，本研究以桉树人工林采伐剩余物枝条为原料，经过高温厌氧制备成生物炭，将其按不同质量分数施用于桉树人工林土壤，探讨桉树枝条生物炭施用后对土壤过氧化氢酶、脲酶等酶活性的影响，筛选有利于促进土壤酶活性的生物炭最佳施用量比例，研究结果有望为林业废弃物生物炭资源化利用和桉树人工林可持续经营提供理论参考依据。

1 试验区域概况

试验区位于广西国营黄冕林场（109°43′46″—109°58′18″ E，24°37′25″—24°52′11″ N），为低山和丘陵地貌，试验地土壤类型主要以山地黄红壤、红壤等为主。详细描述另见段春燕等（2020）。

2 试验材料与方法

2.1 野外样地和土壤采集

以黄冕林场试验地及周边区域内桉树人工林采伐剩余物枝条为原料，由济宁德汉齐机械工程科技有限公司，经过高温（500 ℃）厌氧条件下裂解而成生物炭。生物炭的具体性质详见段春燕等（2020）的描述。2017 年 3 月开始随机区组试验，在桉树人工林样地，参考郭艳亮等（2015）质量百分比和完全混合的方法进行生物炭施用，比例为 CK（0%）、T1（0.5%）、T2（1%）、T3（2%）、T4（4%）和 T5（6%），各 3 个重复，共 18 个试验区，各小区 8 m×8 m。于 2018 年 3 月采集土壤样品，以 10 cm 为间隔，分 3 层取至 30cm 深度，按照 5 点法取样（段春燕等，2020）。土样风干后用于土壤酶活性和理化性质的测定。

2.2 土壤酶活性的分析

土壤酶活性参考关松荫（1986）的方法，一个样品 3 个平行，分别采用苯酚钠比色、3,5 二硝基水杨酸比色、磷酸苯二钠比色、高锰酸钾滴定、氯化三苯基四唑还原和硝基酚比色的方法，测定脲酶（urease, URE, mg g^{-1}）、蔗糖酶（sucrase, SUC, mg g^{-1}）、酸性磷酸酶（acid phosphatase, ACP, mg g^{-1}）、过氧化氢酶（catalase, CAT, mL g^{-1}）、脱氢酶（dehydrogenase activity, DHA, μg·g^{-1} h^{-1}）和 β-葡萄糖苷酶（β-glucosidase，BG，μg·g^{-1} ·h^{-1}）的活性。采用微孔板荧光法（Bell et al., 2013）测定土壤纤维二糖苷酶（cellobioglucosidase，CB，nmol g^{-1} ·h^{-1}）和亮氨酸氨基肽酶（leucine aminopeptidase，LAP，nmol g^{-1} ·h^{-1}）。

2.3 土壤理化性质的分析

用环刀法测定土壤容重（soil bulk density, SBD）；用烘干法测定土壤含水量（soil water content, SWC）；pH 值采用酸度计法；土壤孔隙度（soil porosity, SP）和总土壤孔隙度（total soil porosity, TSP）通过密度和容重计算得出；用岛津 5000A 总有机碳 TOC 仪测定土壤有机碳（soil organic carbon, SOC）；全磷（total phosphorus, TP）用钼锑抗比色法测定（BUV-1600，紫外可见分光光度计）；用硫酸-高氯酸消煮，火焰光度法测定全钾（total potassium, TK）；用碱解扩散法测定速效氮（available nitrogen, AN）；用碳酸氢钠浸提，钼锑抗比色法测定速效磷（available phosphorus, AP）；用火焰光度法（美国 Cole Parmer 火焰光度计）测定速效钾（available potassium, AK）；采用 1 mol L^{-1} 乙酸铵交换法测定土壤阳离子交换量（cation exchange capacity, CEC）；采用电导率仪（DDS-307A）测定电导率（electrical conductivity, EC）（水土为 5:1）；用 1 mol L^{-1}KCl 提取，0.02 mol L^{-1}NaOH 滴定法（鲁如坤，2000）测定土壤交换性酸（exchangeable acid, E-ac）、交换性铝（exchangeable aluminum, E-al）和交换性氢（exchangeable hydrogen, E-hy）。参考马立峰等（2007）的浸提方法，用电感耦合等离子体发射光谱仪（ICP-7400，ThermoFisher Scientific）测定土壤交换性钠（exchangeable sodium, E-na）、交换性钙（exchangeable calcium, E-ca）、交换性镁（exchangeable magnesium, E-ma）。

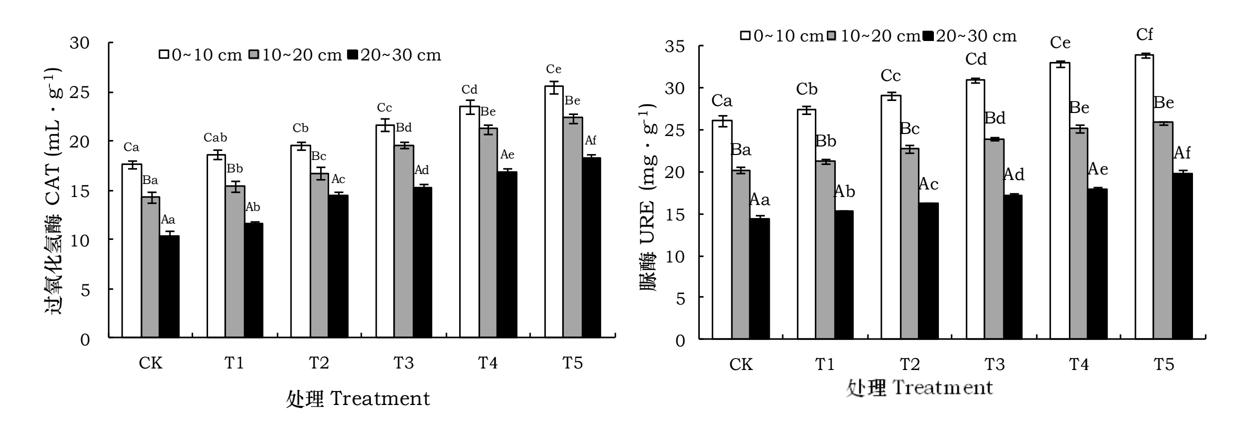
2.4 数据处理

利用 Excel 2010 软件和 SPSS 23.0 软件进行图表制作和数据处理，对不同处理的土壤酶活性分别进行单因素方差分析（One-way ANOVA）、LSD 多重比较（α=0.05）和 Pearson 相关性分析。

3 结果与分析

3.1 不同处理土壤过氧化氢酶和脲酶的变化

从图1可以看出，与对照CK的0~30 cm土层相比，过氧化氢酶和脲酶随着生物炭施用量的增加，其含量一致呈现出逐渐增高的趋势，增幅分别为7.97 %~56.46 %和5.48 %~31.45 %，并在T5时最高。在同一处理下，随土层的增加，均呈现显著降低的趋势；同一土层不同处理间，过氧化氢酶在0~10 cm土层，除了TI与CK、TI与T2之外，其他均达到了显著性水平（P<0.05）。在10~20 cm土层中，过氧化氢酶和脲酶T4与T5之间差异不显著，其他处理之间差异显著。在20~30 cm土层中，过氧化氢酶和脲酶在各处理间均达到了显著性水平（P<0.05）。



不同小写字母表示同一土层不同处理间差异显著（*P*<0.05）；不同大写字母表示同一处理不同土层间差异显著（*P*<0.05）。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments in the same soil layer (*P*<0.05); Different capital letters indicate significant differences between different soil layers in the same treatment (*P*<0.05). The same below.

图 1 不同处理下过氧化氢酶和脲酶的变化

Fig. 1 Change of catalase and urease under different treatments

3.2 不同处理土壤脱氢酶和*β*-葡萄糖苷酶的变化

由图2可知，在不同生物炭处理下，与对照CK的0~30 cm土层相比，增加了土壤脱氢酶和*β*-葡萄糖苷酶含量，分别增加了53.51%~202.33%和12.12%~83.09%，在T5处理最高。随着土层的增加，各处理的脱氢酶和*β*-葡萄糖苷酶均呈现显著降低的趋势；同一土层不同处理中，在0~10 cm土层，脱氢酶除了在T1与T2、T3与T4之外，*β*-葡萄糖苷酶除了在T2与CK、T2与T1之外，其他处理之间差异显著。在10~20 cm土层中，脱氢酶CK与T1之间，T3与T4之间差异不显著，*β*-葡萄糖苷酶中T1分别与T2、T3之间差异不显著（*P*>0.05），而与其他处理之间显著；在20~30 cm土层中，脱氢酶T4分别与T2、T3之间差异不显著（*P*>0.05），*β*-葡萄糖苷酶除了在T1与T2之外，其他均达到了显著性水平（*P*<0.05）。相比较而言，施用生物炭对土壤脱氢酶和*β*-葡萄糖苷酶的影响较为突出。

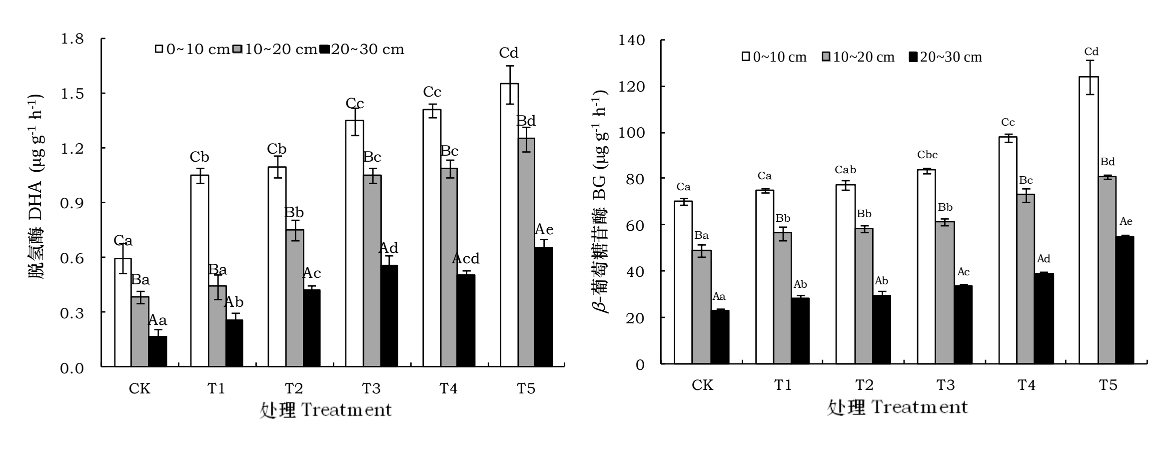


图 2 不同处理下脱氢酶和*β*-葡萄糖苷酶的变化

Fig. 2 Change of soil dehydrogenase and *β*-glucosidase under different treatments

3.3 不同处理土壤酸性磷酸酶和蔗糖酶的变化

由图3可以看出，与对照CK的0~30 cm土层相比，酸性磷酸酶含量大小关系依次为T5<CK<T4<T1<T2<T3，在T3时最高；蔗糖酶的大小关系依次为CK<T1<T2<T3<T5<T4，在T4时最高。随着土层的增加，酸性磷酸酶和蔗糖酶均呈现显著降低的趋势。同一土层不同处理中，在0~10 cm土层，酸性磷酸酶T4分别与CK和T1之间差异不显著（*P*>0.05），蔗糖酶中T4与T5差异不显著（*P*>0.05），其他各个处理差异显著（*P*<0.05）；10~20 cm土层中，蔗糖酶CK与T1之间、T4与T5之间差异不显著（*P*>0.05），而其他处理差异显著；20~30

cm土层中，酸性磷酸酶CK与T4之间差异不显著（P>0.05），其他处理之间差异显著（P<0.05），蔗糖酶在各个处理间均显著差异（P<0.05）。

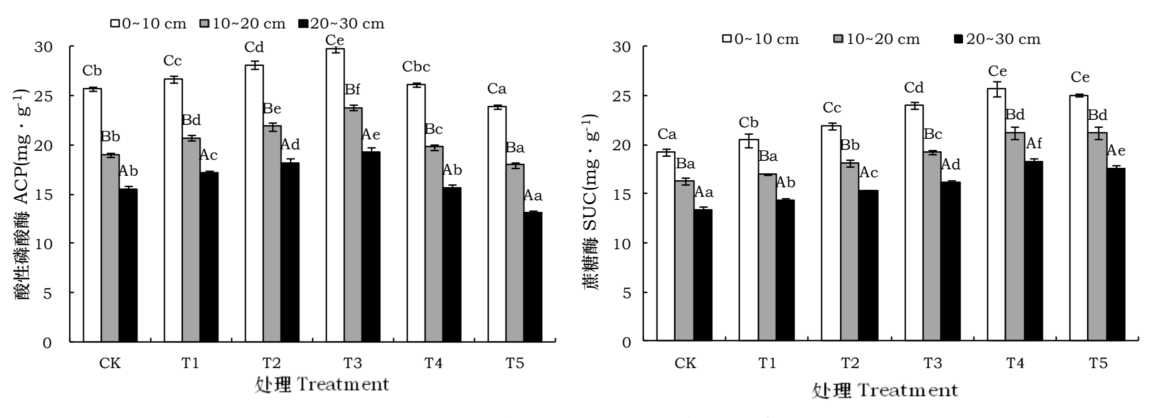


图 3 不同处理下酸性磷酸酶和蔗糖酶的变化

Fig. 3 Change of soil acid phosphatase and sucrase under different treatments

3.4 不同处理土壤亮氨酸氨基肽酶和纤维二糖苷酶的变化

从图4可知，相对于对照CK的0~30 cm土层，亮氨酸氨基肽酶的大小关系表现为T1<CK<T5<T4<T2<T3，在T3时最高；纤维二糖苷酶的大小关系表现为CK<T1<T2<T3<T5<T4，在T4时最高。随着土层的增加，均呈现显著降低的趋势。同一土层不同处理中，在0~10 cm土层，亮氨酸氨基肽酶CK分别与T1、T5之间、T4与T5之间差异不显著（P>0.05），纤维二糖苷酶T4与T5之间差异不显著（P>0.05），而其他处理之间差异显著。在10~20 cm土层中，亮氨酸氨基肽酶CK与T1之间、T2和T4之间差异不显著（P>0.05），纤维二糖苷酶T4与T5之间差异不显著（P>0.05），而与其他处理差异显著（P<0.05）；在20~30 cm土层中，亮氨酸氨基肽酶和纤维二糖苷酶中CK均与T1之间差异不显著（P>0.05），而与其他处理之间差异显著（P<0.05）。

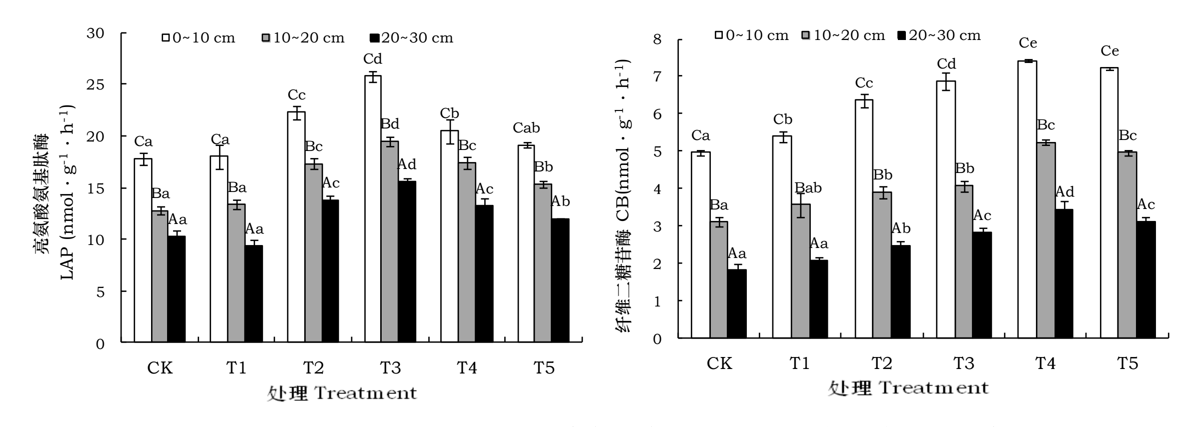


图 4 不同处理下亮氨酸氨基肽酶和纤维二糖苷酶的变化

Fig. 4 Change of soil leucine aminopeptidase and cellobiosidase under different treatments

3.5 土壤酶活性与理化性质的相关性特征

由表 1 可知，CAT、URE、DHA、BG、ACP、SUC、LAP 和 CB 均分别与 CEC、E-ca、E-ma、SWC、SP、TSP、SOC、TP、TK、AP、AK、AN 之间有极显著正相关（P<0.01）；pH、EC 与 ACP 之间有显著正相关（P<0.05），与其他土壤酶之间存在极显著正相关（P<0.01）；SBD 与 ACP 之间存在极显著正相关（P<0.01），与 LAP 之间为显著相关（P<0.05）； E-ac 和 E-al 分别与 CAT、SUC、DHA、BG 之间无显著相关（P>0.05）；E-hy 与 SUC 之间有显著正相关，与 CAT、DHA 之间无显著相关性（P>0.05）；E-na 分别与 SUC、URE、ACP、BG、CB 和 LAP 之间有极显著正相关（P<0.01）。表明土壤酶活性与土壤理化性质间存在密切的关系，土壤酶活性受到由多因子的共同影响，且土壤有机碳对土壤酶活的影响较为显著。

表 1 土壤酶活性与理化性质的相关性特征

Table 1 Correlation characteristics between soil enzyme activities and soil physicochemical properties

指标 Index	CAT	SUC	URE	DHA	ACP	BG	CB	LAP
pH	+**	+**	+**	+**	+*	+**	+**	+**
CEC	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
EC	+**	+**	+**	+**	+*	+**	+**	+**
E-ac	-n	+n	+n	-n	+**	+n	+n	+*
E-al	-n	+n	+*	+n	+**	+n	+*	+*
E-hy	+n	+*	+**	+n	+**	+**	+**	+**
E-na	+n	+**	+**	+*	+**	+**	+**	+**
E-ca	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
E-ma	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
SBD	-n	-n	+n	-n	+**	-n	+n	+*
SWC	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
SP	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
TSP	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
SOC	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
TP	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
TK	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
AP	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
AK	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**
AN	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**	+**

注：+*表示显著正相关（P<0.05）；+**表示极显著正相关（P<0.01）；+n 表示不显著正相关（P>0.05）；-n 表示不显著负相关（P>0.05）。

Note：+* indicate significant positive correlation（P<0.05）; +** indicate extremely significant positive correlation（P<0.01）; +n indicate no significant positive correlation（P>0.05）; -n indicate no significant negative correlation（P>0.05）.

4 讨论

土壤蔗糖酶反映了土壤有机质积累与转化状况，过氧化氢酶主要参与木质素、酚类物质的降解，促进土壤腐殖质的形成（Burns et al., 2013），β-葡糖苷酶是主要的多糖分解酶。过氧化氢酶和纤维素酶对土壤有机碳的分解和转化起着重要作用（Schimel & Weintraub, 2003），土壤脱氢酶可以反映土壤体系内活性微生物量以及其对有机物的降解特征，能作为土壤微生物的降解性能指标。以上各酶多参与土壤中的碳循环。Bamminger 等（2013）的研究表明，施用玉米秸秆生物质炭后，显著增强了森林土壤中的 β-葡萄糖苷酶活性。前人研究表明，生物炭施用降低了过氧化氢酶和纤维素酶的活性（Lehmann et al., 2011），向砂质壤土和红壤中分别施加活性污泥生物质炭后，脱氢酶和 β-葡萄糖苷酶均显著增强（Demisie et al., 2014）。金岩等（2018）的研究表明，套作以及添加生物炭的栽培模式更好的提高了土壤过氧化氢酶、脱氧酶和脲酶的活性。高凤等（2019）研究发现将生物炭施入种植白菜的土壤中提高了其土壤纤维素酶、蔗糖酶活性。研究表明，将玉米生物炭和油菜生物炭施入烟草土壤后，促进了脲酶、蔗糖酶、蛋白酶和 β-葡萄糖苷酶的活性，随着生育期的变化而不同（杜倩等，2021）。与以上研究结果相类似，本研究中，在同一土层不同处理间，随着生物炭施用量的增加，脱氢酶和 β-葡萄糖苷酶的含量均逐渐增高；在同一处理不同土层间，随着土层的增加，脱氢酶和 β-葡萄糖苷酶的含量明显降低，这表明桉树枝条生物炭促进了与土壤碳转化相关酶的活性。胡华英等（2019）在南方红壤杉木人工林土壤中添加杉木生物炭的研究结果表明，生物炭的添加对过氧化氢酶影响不显著。何秀峰等（2020）将生物炭应用于葡萄幼苗土壤中，通过不同施用方式及施用量的对比，发现随着生物炭施用量的增加，土壤过氧化氢酶和蔗糖酶的活性也随之增加。过氧化氢一般会对土壤有益微生物的活动产生毒害作用，但过氧化氢酶则能促进过氧化氢的分解。本试验各处理的过

氧化氢酶活性由高到低依次为 T5＞T4＞T3＞T2＞T1，说明施用生物炭提高了土壤过氧化氢酶活性，可促进过氧化氢的分解，同时，桉树枝条生物炭疏松多孔的结构可能吸附过氧化氢，进而共同降低过氧化氢对土壤的可能危害，可见，生物炭施用后，能改善桉树林的土壤质量。

脲酶是具有对尿素转化起关键作用的酶，可以用来表示土壤供氮能力，土壤亮氨酸氨基肽酶是一类能水解肽链 N-末端为亮氨酸的蛋白酶（关松荫，1986）。前人研究表明，施加小麦秸秆制备的生物质炭可显著提高灰化土中脲酶活性（Oleszczuk et al., 2014），红壤施用橡木-竹混合生物炭后，提高了脲酶的活性（Demisie et al., 2014）。王智慧等（2019）的研究表明不同玉米秸秆生物炭施用量对土壤脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶的活性均有促进作用，其中脲酶在高施用量时促进作用更加明显。王豪吉等（2021）通过在耕地红壤中对比单一施用炭处理和与有机肥配施实验，发现虽然单一施用生物炭显著提高了土壤脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶活性，但生物炭与有机肥的混合施用更加促进酶活性。本研究中，在同一土层不同处理间，随着生物炭施用量的增加，过氧化氢酶含量逐渐增高，表明生物炭施用显著增强了土壤脲酶活性，且土壤脲酶与速效氮关系密切（$P<0.01$），表明在外源桉树枝条生物炭的作用下，提高了土壤的供氮能力。

酸性磷酸酶是评价磷转化的重要指标。Demisie 等（2015）的研究表明，土壤酸性磷酸酶活性随生物质炭的增加而降低。李少朋等（2019）将不同生物炭量添加在盐碱土中，研究发现土壤脲酶活性随着生物炭量的增加而增加，酸性磷酸酶则呈现先升高后降低的变化趋势。与上述研究结果相类似，本研究中，随桉树枝条生物质炭施用量的增加，酸性磷酸酶活性呈现先升高后降低的变化趋势。Lehmann 等（2011）的研究表明，生物炭富含 P、K、Mg 等元素，通过促进土壤微生物的生长，进而增加了土壤酶活性。同时以上研究结果表明，由于生物炭施用量及其自身元素含量的差异性、不同来源的生物炭对土壤酶活性的作用效果不同。本研究中，桉树枝条生物炭还田后，通过改善土壤的理化性质，促进了土壤酶活性的提高。同时，桉树枝条生物炭中包含的营养物质可作为产酶微生物的底物，加之具有多孔结构特征及吸附性，影响了土壤中反应底物的数量，促进了微生物活性，增强了酶促反应，进而增加了土壤酶活性。由于生物炭自身独特的性质，添加生物炭使得土壤酶活性在一定程度上发生了变化。孙慧等（2016）研究发现过氧化氢酶活性受土壤 pH 和有机质含量的影响，与土壤 pH 成正相关。郑慧芬等（2019）将小麦秸秆生物炭施用于红壤之中，研究发现土壤脲酶、β-葡萄糖苷酶与 pH 值显著正关联（$P<0.05$），与酸性磷酸酶有负相关关系（$P<0.05$），表明生物炭通过影响 pH 值，对土壤生物化学过程有调控作用，也表明酶活性与土壤养分之间存在着一定的联系。

许云翔等（2019）研究发现在稻田土壤中施用生物炭提高了脲酶和酸性磷酸酶活性，其酸性磷酸酶活性与土壤容重呈极显著正相关。王智慧等（2019）的研究表明施用生物炭可提高土壤有机碳、全氮、速效磷、速效钾含量，生物炭自身就含有丰富的碳元素，施入土壤中，可能增加了碳源，而对氮素的促进可能因为酶活性的提高。本研究中，施用生物炭有利于增加土壤磷酸酶和蔗糖酶的活性，这与施用生物炭后土壤有机质和土壤速效磷的增加密切关联。段春燕等（2020）的研究表明，高施用量生物炭处理的土壤速效磷含量较高，这也说明酸性磷酸酶促进了土壤磷素的积累。本研究中土壤 β-葡萄糖苷酶与土壤有机碳含量呈极显著正相关，表明 β-葡萄糖苷酶的变化与有机碳大小有关，这与段春燕等（2020）研究得出的生物炭还田后增加了土壤有机碳含量相一致。本研究中，桉树枝条生物炭施用影响了土壤酶活性，随着施用量的不同而变化，酶活性指示了对土壤养分含量的促进作用。

有研究表明，0.5%生物炭（玉米秸秆，450 ℃）促进了土壤纤维素水解酶和 β-葡萄糖苷酶的活性，而 1%生物炭添加反而抑制了上述酶活性（Wang et al., 2015）。在紫色土施用 4%的生物炭，土壤蔗糖酶含量最高（李治玲，2016）。王垚等（2020）将生物炭添加在镉污染土壤中，发现随着生物炭量的添加，土壤脲酶和蔗糖酶均在 5%生物炭施入量时显著增加，但酸性磷酸酶和过氧化氢酶均随使用量增加而降低，并在 5%生物炭施入量时较为稳定。香蕉茎叶生物炭提高了蕉园酸化土壤的酶活性，施用量在 3%时，对蕉园土壤的培肥效应较好（徐广平等，2020）。本研究类似以上研究结论，在 4%～6%生物炭条件下，脱氢酶、过氧化氢酶、β-葡萄糖苷酶和脲酶含量随着施用量的增加而增大，高施用量对桉树人工林土壤过氧化氢酶等酶含量的提高作用较显著。而蔗糖酶、纤维二糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶含量随着生物炭施用量增加呈现先上升后下降的趋势。可见，土壤酶活性指示了土壤理化性质的变化，生物炭自身性质、土壤和作物类型、环境因子（土壤养分、酸碱性等）和人为因素（施肥灌溉、管理措施等）等共同影响了桉

树林的土壤酶活性。Elzobair 等（2016）认为土壤微生物对生物炭中养分的利用状况影响着酶活性。王妙芬等（2021）发现生物炭对土壤 pH、碳、氮含量提升较高，而氮素与几种水解酶有着显著的相关关系，这是由于氮素通过影响土壤微生物的数量、功能等而影响酶活性。本研究中，桉树枝条生物炭通过自身的高养分含量，改变土壤的 pH 等理化性质，间接的对土壤矿质元素的有效性产生影响，改善了桉树人工林的土壤环境，进而来影响酶活性。此外，还可能通过促进土壤微生物的繁衍与生长及其代谢，影响酶活性。尽管因不同酶的类型而表现出小的差异性，但与对照相比，桉树枝条生物炭施用 2%以上比例，对土壤酶活性的影响表现出增加的趋势，而且这些酶均与土壤碳氮磷元素的转化密切相关，进一步说明桉树人工林施用生物炭起到了较好的土壤保肥能力。

5　结论

在桉树人工林施用桉树枝条生物炭对土壤酶活性有着明显的影响，在不同土层，土壤脲酶、过氧化氢酶、脱氢酶和β-葡萄糖苷酶含量随生物炭施用量的增加而增大，均在6%施用量时最高；而亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶在2%施用量时最高，先增大后减小；纤维二塘苷酶和蔗糖酶含量则在4%施用量时最高。随着土层深度的增加，生物炭对酶活性的影响逐渐减弱，土壤酶活性与土壤理化性质密切相关。总体上，桂北桉树人工林施用生物炭，改善了土壤理化性质，提高了土壤酶活性。

致 谢：感谢于倩倩、田垒、程桂霞、刘建春等在实验样品分析方面提供的帮助，特此谢意!

参考文献：

BAILEY VL, FANSLER SJ, SMITH JL, et al., 2011. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization[J]. Soil Bio Biochem, 43(2): 296-301.

BAMMINGER C, MARSCHNER B, JUSCHKE E, 2013. An incubation study on the stability and biological effects of pyrogenic and hydrothermal biochar in two soils[J]. Eur J Soil Sci, 65(1): 72-82.

BELL CW, FRICKS BE, ROCCA JD, et al., 2013. High-throughput fluorometric measurement of potential soil extracellular enzyme activities[J]. J Visual Exp, 81:1-16.

BURNS RG, DEFOREST JL, MARXSEN J, et al., 2013. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions[J]. Soil Biol Biochem, 58: 216-234.

CAMPOS P, MILLER AZ, KNICKER H, et al., 2020. Chemical, physical and morphological properties of biochars produced from agricultural residues: Implications for their use as soil amendment[J]. Waste Manag, 105: 256-267.

CASTALDI S, RIONDINO M, BARONTI S, et al., 2011. Impact of biochar application to a Mediterranean wheat crop on soil microbial activity and greenhouse gas fluxes[J]. Chemosphere, 85(9): 1464-1471.

DEMISIE W, LIU Z, ZHANG MK, 2014. Effect of biochar on carbon fractions and enzyme activity of red soil[J]. Catena, (121): 214-221.

DEMISIE W, ZHANG MK, 2015. Effect of biochar application on microbial biomass and enzymatic activities in degraded red soil[J]. Afr J Agric Res, 10(8): 755-766.

DU Q, HUANG R, LI B, et al., 2021. Effect of biochar returning on labile organic carbon and enzyme activity in tobacco-growing soil[J]. J Nucl Agric Sci, 35(6): 1440-1450. [杜倩，黄容，李冰，等，2021．生物炭还田对植烟土壤活性有机碳及酶活性的影响[J]．核农学报，35(6)：1440-1450.]

DUAN CY, SHEN YY, XU GP, et al., 2020. Effects of *Eucalyptus* branches biochar application on soil physicochemical properties of acidified soil in a *Eucalyptus* plantation in Northern Guangxi[J]. Chin J Environ Sci, 41(9): 358-369. [段春燕，沈育伊，徐广平，等，2020. 桉树枝条生物炭输入对桂北桉树人工林酸化土壤的作用效果[J]．环境科学，41(9)：358-369.]

ELZOBAIR KA, STROMBERGER ME, IPPOLITO JA, et al., 2016. Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol[J]. Chemosphere, 142: 145-152.

GAO F, YANG FJ, WU X, et al., 2019. Effects of biochar application on organic matter content and enzyme activity in rhizosphere soil of Chinese cabbage[J]. Chin J Soil Sci, 50(1): 103-108. [高凤，杨凤军，吴瑕，

等，2019. 施用生物炭对白菜根际土壤中有机质含量及酶活性的影响[J]. 土壤通报，50(1)：103-108.]
GU MY, LIU HL, LI ZQ, et al., 2014. lmpact of biochar application on soil nutrients and microbial diversities in continuous cultivated cotton fields in Xinjiang[J]. Sci Agric Sin, 47(20): 4128-4138. [顾美英，刘洪亮，李志强，等，2014. 新疆连作棉田施用生物炭对土壤养分及微生物群落多样性的影响[J]. 中国农业科学，47(20)：4128-4138.]
GUAN SY, 1986. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agriculture Press: 274-323. [关松荫，1986. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京：农业出版社：274-323.]
GUO YL, WANG DD, ZHENG JY, et al., 2015. Effect of biochar on soil greenhouse gas emissions in semi-arid region[J]. Chin J Environ Sci, 36(9): 3393-3400. [郭艳亮，王丹丹，郑纪勇，等. 2015. 生物炭添加对半干旱地区土壤温室气体排放的影响[J]. 环境科学，36(9)：3393-3400.]
HE XF, ZHAO FY, YU K, et al., 2020. Effect of biochar on nutrient, enzyme activities and microbial diversity of rhizosphere soil of grape seedlings[J]. Soil Fert Sci Chin, (6): 19-26. [何秀峰，赵丰云，于坤，等，2020. 生物炭对葡萄幼苗根际土壤养分、酶活性及微生物多样性的影响[J]. 中国土壤与肥料，(6)：19-26.]
HE XM, FENG DZ, AO FL, et al., 2015. Research on the characteristic and application of bio-carbon[J]. Fuel and Chem Proc, 46(4): 1-3. [何选明，冯东征，敖福禄，等，2015. 生物炭的特性及其应用研究进展[J]. 燃料与化工，46(4)：1-3.]
HU HY, YIN DY, CAO S, et al., 2019. Effects of biochar on soil nutrient, enzyme activity, and bacterial properties of Chinese fir plantation[J]. Acta Ecol Sin, 39(11): 4138-4148. [胡华英，殷丹阳，曹升，等，2019. 生物炭对杉木人工林土壤养分、酶活性及细菌性质的影响[J]. 生态学报，39(11)：4138-4148.]
HUANG GQ, ZHAO QG, 2014. The history, status quo, ecological problems and countermeasures of *Eucalyptus* plantations in Guangxi[J]. Acta Ecol Sin, 34(18): 5142-5152. [黄国勤，赵其国，2014. 广西桉树种植的历史、现状、生态问题及应对策略[J]. 生态学报，34(18)：5142-5152.]
JIN Y, YANG FJ, WU X, et al., 2018. The intercropping and biochar interaction improved the soil enzyme activity and fruit quality of tomato[J]. Xin Nongye, (7): 6-10. [金岩，杨凤军，吴瑕，等，2018. 套作与生物炭互作提高番茄土壤酶活性和果实品质[J]. 新农业，(7)：6-10.]
LEHMANN J, RILLIG MC, THIES J, et al., 2011. Biochar effects on soil biota-a review[J]. Soil Biol Biochem, 43(9): 1812-1836.
LI SP, CHEN PZ, ZHOU YY, et al., 2019. Effects of biochar application on available nutrients and enzyme activities in coastal saline-alkali soil[J]. J S Agric, 50(7): 1460-1465. [李少朋，陈昢圳，周艺艺，等，2019. 生物炭施用对滨海盐碱土速效养分和酶活性的影响[J]. 南方农业学报，50(7)：1460-1465.]
LI ZL, 2016. Effect of biochar on nutrient content, soil microorganism and soil enzyme activities in purple soil and yellow soil[D]. Chongqing: Southwest University, 47-49. [李治玲，2016. 生物炭对紫色土和黄壤养分、微生物及酶活性的影响[D]. 重庆：西南大学：47-49.]
LU RK, 2000. Methods of soil agricultural chemical analysis[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press: 22-36. [鲁如坤，2000. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京：中国农业科技出版：22-36.]
MA LF, YANG YY, SHI YZ, et al., 2007. Applications of an universal soil extractant of Mehlich 3 to nutrient analysis of tea garden soil[J]. Chin J Soil Sci, 38(4): 745-748. [马立峰，杨亦杨，石元值，等，2007. Mehlich 3 浸提剂在茶园土壤养分分析中的应用[J]. 土壤通报，38(4): 745-748.]
OLESZEZUK P, JOSKO I, FUTA B, et al., 2014. Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil[J]. Geoderma, 214-215: 10-18.
SCHIMEL JP, WEINTRAUB MN, 2003. The implications of exoenzyme activity on microbial and nitrogen limitation in soil: a theoretical model[J]. Soil Biol Biochem, 35(4): 549-563.
SHANG J, GENG ZC, WANG YL, et al., 2016. Effect of biochar amendment on soil microbial biomass carbon and nitrogen and enzyme activity in tier soils[J]. Sci Agric Sin, 49(6): 1142-1151. [尚杰，耿增超，王月玲，等，2016. 施用生物炭对(土娄)土微生物量碳、氮及酶活性的影响[J]. 中国农业科学，49(6)：1142-1151.]
SUN H, ZHANG JF, HU Y, et al., 2016. Research on the response of soil catalase to different forest stand

covers[J]. Chin J Soil Sci, 47(3): 605-610. [孙慧，张建锋，胡颖，等，2016. 土壤过氧化氢酶对不同林分覆盖的响应[J]. 土壤通报，47(3)：605-610.]

WANG HJ, SHI MX, XU YY, et al., 2021. Effects of the combined application of biochar and organic fertilizer on the soil enzyme activity and crop yield of cultivated red soil[J]. J Yunnan Norm Univ(Nat Sci Ed), 41(1): 56-63. [王豪吉，施梦馨，徐应垚，等，2021. 生物炭与有机肥配施对耕地红壤酶活性及作物产量的影响[J]. 云南师范大学学报(自然科学版)，41(1)：56-63.]

WANG LW, OCONNOR D, RINKLEBE J, et al., 2020. Biochar aging: mechanisms, physicochemical changes, assessment and implications for field applications[J]. Environ Sci Technol, 54(23): 14797-14814.

WANG MF, LIANG MM, YANG Q, et al., 2021. Effects of the addition of straw and biochar on the activities of soil enzyme[J]. Fujian Agric Sci Technol, 52(7):10-17. [王妙芬，梁美美，杨庆，等，2021. 秸秆及其生物炭添加对土壤酶活性的影响[J]. 福建农业科技，52(7)：10-17.]

WANG XB, SONG DL, LIANG GQ, et al., 2015. Maize biochar addition rate influences soil enzyme activity and microbial community composition in a fluvo-aquic soil[J]. Appl Soil Ecol, 96: 265-272.

WANG Y, HU Y, MA YH, et al., 2020. Effect of biochar addition on soil available cadmium and enzyme activities[J]. Chin J Soil Sci, 51(4): 979-985. [王垚，胡洋，马友华，等，2020. 生物炭对镉污染土壤有效态镉及土壤酶活性的影响[J]. 土壤通报，51(4)：979-985.]

WANG ZH, YIN DW, WANG HY, et al., 2019. Effects of different amounts of biochar applied on soil nutrient, soil enzyme activity and maize yield[J]. NE Agric Sci, 44(3): 14-19. [王智慧，殷大伟，王洪义，等，2019. 生物炭对土壤养分、酶活性及玉米产量的影响[J]. 东北农业科学，44(3)：14-19.]

WEN YG, ZHOU XG, ZHU HG, 2019. Theoretical exploration and practices of ecological management in *Eucalyptus* plantations[J]. Guangxi Sci, 26(2): 159-175. [温远光，周晓果，朱宏光，2019. 桉树生态营林的理论探索与实践[J]. 广西科学，26(2)：159-175.]

XU GP, TENG QM, SHEN YY, et al., 2020. Effects of banana stems-leaves biochar on soil properties and control of banana fusarium wilt[J]. Ecol Environ Sci, 29(12): 2373-2384. [徐广平，滕秋梅，沈育伊，等，2020. 香蕉茎叶生物炭对香蕉枯萎病防控效果及土壤性状的影响[J]. 生态环境学报，29(12)：2373-2384.]

XU J, WANG R, DENG FF, et al., 2020. Effects of biochar application on soil physicochemical properties and enzyme activities in poplar plantation in Dongtai coastal area[J]. J Fujian Agric For Univ(Nat Sci Ed), 49(3): 348-353. [徐瑾，王瑞，邓芳芳，等，2020. 施用生物炭对东台沿海杨树人工林土壤理化性质及酶活性的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版)，49(3)：348-353.]

XU M, XIA H X, WU J, et al., 2017. Shifts in the relative abundance of bacteria after wine-lees-derived biochar intervention in multi metal-contaminated paddy soil[J]. Sci Total Environ, 599/600: 1297-1307.

XU YX, HE LL, LIU YX, et al., 2019. Effects of biochar addition on enzyme activity and fertility in paddy soil after six years[J]. Chin J Appl Ecol, 30(4): 1110-1118. [许云翔，何莉莉，刘玉学，等，2019. 施用生物炭6年后对稻田土壤酶活性及肥力的影响[J]. 应用生态学报，30(4)：1110-1118.]

ZHENG HF, WU HH, WENG BQ, et al., 2019. Improved soil microbial characteristics and enzyme activities with wheat straw biochar addition to an acid tea plantation in red soil[J]. Soil Fert Sci Chin, (2): 68-74. [郑慧芬，吴红慧，翁伯琦，等，2019. 施用生物炭提高酸性红壤茶园土壤的微生物特征及酶活性[J]. 中国土壤与肥料，(2)：68-74.]